

J.M.Cei y R.Cohen

Presentamos algunas consideraciones preliminares sobre relaciones serológicas en Anfibios Anuros, mediante comparación de áreas integradas en tests homo-heterólogos de precipitinas, evaluados por photronreflectometría. El problema que nos interesa es el grado de afinidad o parentesco filético entre especies americanas del género Bufo. Sobre el origen del género, si paleogeico o neogeico, no se puede dar todavía una opinión definitiva, pero una reconstrucción de la historia y en parte de la filogenia de las formas americanas se ha intentado por Tihen (1962) con argumentos osteológicos, por Gallardo (1962) con argumentos dialécticos, y por Blair (1962, 1963, 1964) fundándose sobre datos fisiológicos, en particular los resultados de cruzamientos interespecíficos, expresión del "grado de diferenciación de los sistemas genéticos..." ("... the degree of differentiation of genetic systems in the various species..."). Nos referiremos en la discusión de nuestros resultados principalmente al enfoque teórico de Blair en sus aspectos críticos.

Hemos trabajado con materiales norte y sur-americanos, obtenidos por colaboración de la Universidad de Texas, Austin, o en el curso de nuestros viajes de recolección zoológica en México, Perú, Argentina. Se han estudiado las siguientes especies: spinulosus, spinulosus limensis, arenarum, paracnemis, boreas, punctatus, alvarius, woodhousei, speciosus, cognatus, valliceps. La técnica ha sido estandarizada en trabajos anteriores (Cei, 1964; Cohen, 1964): extracción de sangre por punción cardíaca, coagulación, filtración del suero en filtros Seitz, inmunización de conejos, reacciones de precipitinas por incubación a 37°C y su lectura en unidades galvanométricas en el Photroner de Libby. Los resultados se exponen en la Tabla I: las reacciones homólogas se indican en valores de 100%; las heterólogas en porcentajes de la reacción homóloga.

Analizamos ahora el significado de las reacciones.

El suero anti-spinulosus (Mendoza) evidencia en los tests heterólogos la mayor afinidad con boreas (Colorado) y punctatus (Arizona): 62.3% y 71.5%. Siguen en orden de afinidad alvarius, cognatus y woodhousei, todos de Arizona (entre 50% y 58%). La mayor distancia serológica parece existir con

valliceps de Texas (31.1%). Controlando en las reacciones recíprocas, con antígenos de spinulosus, observamos una correspondencia indudable en los datos: dos sueros anti-alvarius dan con spinulosus (Mendoza) 59.1% y 60.6% (contra 58%); dos sueros anti-woodhousei dan 55.4% con spinulosus y 44% con spinulosus limensis (contra 50%); antígenos woodhousei y anti-spinulosus, Mendoza); un suero anti-valliceps da 34.8% con spinulosus (Mendoza), y 40.2% con spinulosus limensis (contra 31.1%).

En las investigaciones recientes de Blair (1964) se ha subrayado la inter-fecundidad entre boreas y spinulosus, casi del mismo rango de la que se observa en los cruzamientos boreas X canorus, forma del mismo grupo, y boreas X alvarius. También en los cruzamientos boreas X punctatus el grado de compatibilidad genética es elevado, resultando más bajo en los cruzamientos boreas X valliceps. Parece haber una similitud general entre los resultados de los tests de precipitinas y los de la hibridación inter-específica experimental. Es interesante añadir, en base a comunicación personal de Blair, que mientras se revelan elevados los porcentajes de metamorfosados en las cruces valliceps X arenarum (85% ♀ valliceps X ♂ arenarum; 53% ♀ arenarum X ♂ valliceps), más bajos son entre valliceps y spinulosus (42% ♀ valliceps X ♂ spinulosus; 4% ♀ spinulosus X ♂ valliceps) y más bajos aun entre arenarum y spinulosus (1% ♀ arenarum X ♂ spinulosus; 6% ♀ spinulosus X ♂ arenarum). Pero entre arenarum y paracnemis el índice de híbridos metamorfosados es, según Blair, también muy alto, con casos de fertilidad en F₁.

Por otra parte la raíz filética común a las formas grandes neotropicales del grupo marinus parece confirmada por aquellos datos, con compatibilidad buena entre marinus, paracnemis e ictericus, y siempre subrayándose la posición intermedia de arenarum, a la vez con la línea marinus, la línea valliceps y hasta con la línea granulosus (cfr. Cohen, 1964). En nuestros tests el suero anti-valliceps X paracnemis da también valores totales de área muy elevados, 85.9%, que se repiten en la reacción recíproca (84.6%).

Se puede preliminarmente concluir, a la vez por la similitud entre los resultados de la hibridación inter-específica y de las precipitinas, por otros hallazgos bioquímicos (Cai y Erspamer; otra comunicación, 1965), y por varios caracteres morfológicos y etológicos, ya indicados por Blair, que existen afinidades evidentes entre el grupo boreas de las Cordilleras de Norte América y el grupo spinulosus de las Cordilleras sudamericanas. Esta comprobación está en contraste con

la clasificación propuesta por Tihen (quien no deja de mencionar todavía reminiscencias osteológicas entre spinulosus y boreas) y también con la de Gallardo, quien coloca a spinulosus junto con arenarum, en una sección marinus de una rama de Bufónidos denominada "neotropical". El planteo general de Blair postula como hipótesis de trabajo, en la evolución y filogenia de Bufo en el Nuevo Continente, la posible existencia de dos grandes líneas filéticas, a las cuales se refieren las formas americanas, actualmente agrupadas en 11 conjuntos, como consecuencia de fenómenos de especiación probablemente post-pliocénicos. Blair llama "línea septentrional" una serie de conjuntos, caracterizados morfológicamente por la ausencia o reducción de las crestas cefálicas, en relación con las formas eurasíáticas Bufo bufo y Bufo viridis-calamita. Se incluyen allí boreas y afines, el grupo americanus, el grupo debilis y el aberrante quercicus. Llama luego "línea meridional" a las formas numerosas dotadas de crestas cefálicas desarrolladas o hipertrofiadas, en probable conexión, quizás terciaria, con melanostictus, actualmente repartidas en el conjunto marinus, el grupo valliceps, con las líneas precozmente divergentes de canaliferus y coccifer, y los conjuntos occidentalis, cognatus y punctatus-marmoreus. Formas como alvarius o el grupo insular peltecephalus son de ubicación más incierta, bajo algunos aspectos al lado de boreas, por otras consideraciones más cerca de valliceps.

El análisis de nuestros tests serológicos nos lleva a insistir sobre el interés de este esquema. En efecto, además de las relaciones generales entre spinulosus, boreas y punctatus, ya discutidas, nos es dado observar que woodhousei, forma del grupo americanus, dotado según Blair de cierta compatibilidad genética con boreas, presenta valores similares de reacción inmunológica con boreas (57.4%), punctatus (56.7%), spinulosus (55.4%) y menos con valliceps (34.4%). Bufo alvarius manifiesta afinidades hacia punctatus (80.1%), spinulosus (59.4% - 60.6%), woodhousei (57.6%) pero también hacia valliceps (68.8%), que están de acuerdo con su posición no bien definida frente a ambas líneas, "septentrional" y "meridional" así como en la discusión de Blair.

El grupo cognatus confirma su separación probablemente precoz desde un antiguo stock de valliceps, prevista en el esquema gráfico de Blair. Los porcentajes de área de anti-speciosus X cognatus y anti-cognatus X speciosus son 57.4% y 68.8% respectivamente, los de anti-speciosus X paracnemis y anti-cognatus X valliceps 64.3% y 72.3% respectivamente. Los va

lores no se alejan mucho en tests recíprocos: 69.3% en anti-paracnemis X speciosus, 61.1% en anti-valliceps X cognatus. Sin embargo con anti-woodhousei y anti-spinulosus los valores del antígeno cognatus son más bajos: 56.9 y 55.3%. La correspondencia con el esquema mencionado es muy significativa, y al mismo tiempo se destaca la independencia como taxa específicos de cognatus y speciosus, quizás debido a su prolongado aislamiento genético.

La repetición y ampliación de nuestros datos preliminares, paralelamente a las investigaciones en curso en Austin, Texas, podrán añadir mayores detalles al cuadro ahora expuesto y aclarar aspectos todavía oscuros de las relaciones inter-específicas examinadas. Los resultados presentes, por su significado, hablan con suficiente claridad a favor de una muy precoz diferenciación del género Bufo en el continente americano, que está además de acuerdo con opiniones recientes de herpetólogos sobre la antigüedad de estos elementos de la fauna terciaria. Tihen (1962) por ejemplo interpreta como una forma del grupo calamita a Neoprocoela edentada de Schaeffer del Oligoceno de Patagonia, y coloca en el mismo grupo también a Bufo alienus del Pliocénico Medio de Norte América. Estes y Wassersug (1963) no encuentran diferencias suficientes para separar de Bufo marinus un fósil del Miocénico de Huila, Valle del Magdalena en Colombia, y comentan que "...desde el Cretácico tardío o Paleogeno, los grupos propios de las varias familias ya se habrían diferenciado bien y hubieran estado ya presentes líneas referibles a muchos géneros modernos..."

Si consideramos la posibilidad de un origen común a partir de un conjunto ancestral asociado con la Cordillera americana, y una evolución sucesiva por disyunción geográfica, son comprensibles las afinidades actuales entre boreas y spinulosus, separados por más de 32° de latitud, desde Ecuador a la Baja California. También aparece comprensible en el marco del bosquejo filético de Blair- el gradiente de afinidad que se manifiesta entre las formas del grupo marinus, valliceps y cognatus-speciosus, o la posición de woodhousei, precozmente separado de americanus, igualmente distante de boreas-punctatus y spinulosus, algo más de cognatus, pero en relación ambigua con varias formas de los conjuntos valliceps o marinus.

La integración de los métodos no-morfológicos, considerando la especie como una entidad biológica en equilibrio dinámico, acondicionado por su información genética, no solamente completa el estudio sistemático clásico, sino que ya puede ahora precederlo y orientarlo, proporcionando elementos críticos.

objetivos y no subjetivos, y según un nivel progresivo de resolución que llega hasta los más íntimos patrones moleculares.

TABLA I

RELACIONES SEROLOGICAS ENTRE BUFO AMERICANOS DE LOS GRUPOS:

boreas, americanus, valliceps y grupos afines.

(Los números de serie de los antisueños se refieren a números de las series inmunológicas del Laboratorio del Instituto de Biología).

(Tests realizados con Photroner de Libby: distancias serológicas en razón del % de las áreas integradas (U.P.)

ANTISUEÑOS		ANTIGENO	% áreas integradas
anti- <u>spinulosus</u> (9) MENDOZA	X	<u>spinulosus</u> MENDOZA	100.0
		<u>punctatus</u> ARIZONA	71.5
		<u>boreas</u> COLORADO	62.3
		<u>alvarius</u> ARIZONA	58.0
		<u>cognatus</u> ARIZONA	55.3
		<u>woodhousei</u> ARIZONA	50.0
		<u>valliceps</u> TEXAS	31.1
anti- <u>alvarius</u> (5) ARIZONA	X	<u>alvarius</u> ARIZONA	100.0
		<u>punctatus</u> ARIZONA	80.1
		<u>spinulosus</u> MENDOZA	59.4
		<u>woodhousei</u> ARIZONA	57.6
anti- <u>alvarius</u> (6) ARIZONA	X	<u>alvarius</u> ARIZONA	100.0
		<u>valliceps</u> TEXAS	68.8
		<u>spinulosus</u> MENDOZA	60.6
		<u>boreas</u> COLORADO	53.1
		<u>paracnemis</u> FORMOSA	46.8
anti- <u>woodhousei</u> (14) ARIZONA	X	<u>woodhousei</u> ARIZONA	100.0
		<u>alvarius</u> ARIZONA	70.2
		<u>boreas</u> COLORADO	57.4
		<u>punctatus</u> ARIZONA	56.7
		<u>spinulosus</u> MENDOZA	55.4
		<u>valliceps</u> TEXAS	34.4

anti- <u>woodhousei</u> (15) ARIZONA	X	<u>woodhousei</u> ARIZONA	100.0
		<u>cognatus</u> TEXAS	56.9
		<u>spinulosus linensis</u> PERU	44.0
		<u>horribilis</u> MEXICO	40.8
		<u>arenarum</u> MENDOZA	35.4
anti- <u>valliceps</u> (2) TEXAS	X	<u>valliceps</u> TEXAS	100.0
		<u>cognatus</u> TEXAS	61.1
		<u>punctatus</u> ARIZONA	58.2
		<u>woodhousei</u> ARIZONA	46.7
		<u>boreas</u> COLORADO	43.8
		<u>spinulosus linensis</u> PERU	40.2
		<u>spinulosus</u> MENDOZA	34.8
anti- <u>valliceps</u> (1) TEXAS	X	<u>valliceps</u> TEXAS	100.0
		<u>paracnemis</u> FORMOSA	85.9
anti- <u>paracnemis</u> (12) FORMOSA	X	<u>paracnemis</u> FORMOSA	100.0
		<u>valliceps</u> TEXAS	84.6
		<u>woodhousei</u> ARIZONA	78.3
		<u>speciosus</u> TEXAS	69.3
		<u>boreas</u> COLORADO	62.1
anti- <u>speciosus</u> (7) TEXAS	X	<u>speciosus</u> TEXAS	100.0
		<u>cognatus</u> TEXAS	57.4
anti- <u>speciosus</u> (8) TEXAS	X	<u>speciosus</u> TEXAS	100.0
		<u>paracnemis</u> FORMOSA	64.3
anti- <u>cognatus</u> (3) TEXAS	X	<u>cognatus</u> TEXAS	100.0
		<u>speciosus</u> TEXAS	68.8
anti- <u>cognatus</u> (4) TEXAS	X	<u>cognatus</u> TEXAS	100.0
		<u>valliceps</u> TEXAS	74.2

----- 0 -----

RESUMEN

Tests preliminares serológicos con las técnicas photron reflectométricas permiten establecer afinidades entre Bufo boreas del Oeste de Estados Unidos y Bufo spinulosus de las Cordilleras andinas. Mayor distancia serológica parece existir entre estas formas y representantes del grupo valliceps-marinus. Se discute las relaciones generales de estos bufónidos americanos y de otras formas como alvarius, punctatus y woodhousei.

SUMMARY

Preliminary serological tests by mean of photronreflectometric techniques allow us to establish relationships between Bufo boreas from the Western United States and Bufo spinulosus from the Andean mountain range. Greater serological distance seems to exist between these toads and representatives of the valliceps-marinus group. The general relationships between these american bufonids and other toads such as alvarius, punctatus and woodhousei is discussed.

LITERATURA CITADA

- BLAIR, W.F. 1962. Non morphological data in anura classification. System. Zool., 11: 72-84
- 1963. Evolutionary relationships of North-American Toads of the genus Bufo: a progress report. Evolution, 17, 1: 1-16
- 1964. Evidence bearing on relationships of the Bufo boreas group of Toads. The Texas Journ. of Sc., 16, 2: 181-192

- CEI, J.M. 1963. Some precipitin tests and preliminary remarks on the systematic relationships of four South-American families of Frogs. Serol. Museum Bull. 30. Rutgers University: 4-6
- CEI, J.M. y V. ERSPALER. 1965. Datos cromatográficos sobre los derivados indólicos de la piel de los Bufónidos en relación con su posición sistemática (Comun. III° Congr. Latinoameric. Zool. Santiago de Chile-Octubre 1965).
- COHEN, R. 1964. Reacciones de precipitinas y relaciones filogenéticas entre los grandes Bufónidos neotropicales. Ciencia e Investigación, Buenos Aires, 20: 556-561
- ESTES, R. and R. WASSERSUG. 1963. A Miocene Toad from Colombia, South-America. Breviora, 193: 1-13
- GALLARDO, J.M. 1962. A propósito de Bufo variegatus (Günther) sapo del bosque húmedo antartándico, y las otras especies de Bufo neotropicales. Physis, 23, 64: 93-102
- TEHLEN, J.A. 1962. Osteological observations on New World Bufo. The Amer. Midland Natur., 67, 1: 157-163
- 1962. A Review of New World fossil Bufonids. The Amer. Midland Natur., 68, 1: 1-50

Instituto de Biología
 Universidad Nacional de Cuyo
 Mendoza (ARGENTINA)

Publicado en Acta III° Congreso Latinoamericano de Zoología.
 Santiago de Chile - Octubre 1965. Investigaciones Zoológicas
 Chilenas